

Az OTKA pályázat keretében több irányban végeztünk kutatásokat a fájdalom mechanizmusok tisztázása érdekében. Az egyes kutatások eredményeit külön fejezetekben ismertetem.

I. Spinális mechanizmusok vizsgálata

Megvizsgáltuk a cannabinoid receptoron ható endogén anandamide fájdalomcsillapító hatását carrageenin-indukálta gyulladásos modellen, illetve meghatároztuk az anandamide interakcióját a TRPV1 receptor antagonistá capsazepinnel. Hipotézisünk azon alapult, hogy az anandamide aktiválja a TRPV1 receptorokat is, ugyanakkor nem volt *in vivo* adat arra vonatkozóan, hogyan befolyásolja az anandamide fájdalomcsillapító hatását a TRPV1 receptorok gátlása gerincvelői szinten. A capsazepine önmagában adva kis mértékben csökkentette a fájdalomküszöböt az ép oldalon, de nem befolyásolta azt a gyulladt lábon. Az anandamide az ép oldalon kis mértékben emelte a fájdalomküszöböt, de dózis-függően, és jelentős mértékben csökkentette a thermalis hyperalgiát. Ugyanakkor a legnagyobb dózis átmeneti excitációt, fájdalmas magatartást is kiváltott. Igen érdekesnek bizonyult az anandamide és a capsazepin interakciója. Az 1 µg anandamide hatását nem befolyásolta jelentős mértékben a capsazepine, egyik lábon sem. Ugyanakkor a 33 µg anandamide hatását már jelentősen módosította. Érdekes módon, a 10 µg capsazepine elnyújtotta az anandamide hatását, ugyanakkor a nagy dózis csökkentette kis mértékben azt. A 100 µg dózisú anandamide hatását azonban már mindkét dózisú capsazepine csökkentette.

Eredményeink arra irányítják rá a figyelmet, hogy az anandamide antihyperalgesias hatásában szerepet játszanak a TRPV1 receptorok aktivációja is gerincvelői szinten. Feltételezzük, hogy a capsaicin szenzitív receptorok ingerlése az anandamide révén kiválthatja az endogén antinociceptív ligandok felszabadulását, melyet a capsazepine gátolhat. Megvizsgáltuk továbbá az anandamide interakcióját két, eltérő receptoron ható endogén liganddal is. Ennek megfelelően meghatároztuk az anandamide – endomorphin-1 és az anandamide – adenosin kombinációk hatékonyságát gyulladásos fájdalom modellen. Eredményeink azt igazolták, hogy az anandamide-endomorphin-1 potenciálta egymás hatását, míg az anandamide - adenosin kombináció nem mutatott ki szinergisztikus interakciót.

Tovább folytattuk kísérleteinket az endomorphin-1, agmatin, adenosin, kinurensav ligandokkal is. Előzőekben ezen négy ligand kettős kombinációjának antinociceptív hatását vizsgáltuk. Újabb vizsgálataink arra irányultak, hogy ezen anyagok hármas és négyes kombinációinak gyulladásos fájdalmat csökkentő hatását is megvizsgáljuk. Elvi alapja ezen

kísérleteknek az volt, hogy szervezetünk is többféle transzmitter dolgozik annak érdekében, hogy hatékony fájdalomcsillapítást érjen el különböző szituációkban (pl. sztrесс-indukálta analgészia). Megállapítottuk, hogy mind hármas, mind négyes kombinációban adva ezeket a ligandokat, kedvező interakciójuk révén a kombinációban tovább csökkenthető az alkalmazott dózis, s ezzel a mellékhatások veszélye tovább mérsékelhető.

Megvizsgáltuk egy másik cannabinoid/TRPV1 receptoron ható endogén ligand, a N-arachydonoyl-dopamin (NADA) hatását is intrathecalis adás esetén. Eredményeink azt igazolták, hogy a NADA is hatékony a thermalis hyperalgesia csökkentésében, és hatásában mind a cannabinoid, mind a TRPV1 receptorok aktivációjának szerepe van. Az endomorphin-1-el együtt adva additív interakciót figyeltünk meg.

Kísérleteket folytattunk további endogén cannabinoid ligandokkal is (2-arachidonoylglycerol: 2-AG, hemopressin). Eddigi eredményeink azt igazolták, hogy a ligandok különböző potenciállal rendelkeznek a gyulladásos fájdalom befolyásolása szempontjából. A hemopressin alkalmazása egy új irányt hozhat, hiszen az irodalmi adatok szerint ez az első peptid természetű endogén cannabinoid ligand, szemben az eddigi lipidszármazékokkal. Az irodalmi adatok azt igazolták, hogy inverz agonista a CB1 receptoron, ugyanakkor intrathecalis hemopressin előkezelés jelentős mértékben csökkenti a carraggenan-indukálta hiperalgéziát. Jelen kísérletsorozatunkban a hemopressint a gyulladás kiváltása után alkalmaztuk intrathecalisan és a dinamikus aesthesiometeren (jelen OTKA pályázati támogatásból beruházott) vizsgáltuk a mechanikus allodínia mértékét. Eddigi eredményeink azt igazolták, hogy igen kis potenciállal, de képes kismértékű antinocicepciót kifejteni. Megvizsgáltuk a hemopressin interakcióját az anandamide-val, és az eddigi eredmények arra utalnak, hogy a két ligand nem potenciálja egymás hatását. A 2-AG spinális fájdalomcsillapító hatását is munkacsoportunk vizsgálta meg először. Eddigi adataink arra utalnak, hogy hatékonyan képes csökkenteni a mechanikus allodíniát, és hatásában elsősorban CB1 receptorok aktivációja vesz részt, és hatását a hemopresszin csökkenti.

5 hazai és 4 külföldi kongresszuson mutattuk be eredményeinket, ebből 2 absztrakt impact faktoros folyóiratban is megjelent (össz IF: 2,929). 4 impact faktoros nemzetközi folyóiratban megjelent eredeti közleményben ismertettük ezen témákban eredményeinket (Össz IF: 13,195). A NADA-val, 2-AG-vel és a hemopresszinnel folytatott kísérletek eredményeit jelenleg dolgozzuk fel. Terveink szerint két közlemény várható ezekből az adatokból.

II. A vizsketés spinális mechanizmusának vizsgálata

Tovább folytattuk a viszketésben szerepet játszó spinális mechanizmusok feltárását is. Kifejlesztettünk egy olyan modellt, mely alkalmas a patkány alsó testfelének viszketési magatartásának meghatározására. Az intratekálisan adott naltrexon csökkentette a orto-metil-serotonin-okozta viszketési magatartást. Az NMDA antagonistá ketamin nem befolyásolta azt jelentős mértékben, ugyanakkor az endogén kinurénsav, melynek NMDA antagonistá hatása is van, már hatékony volt. Mivel a kinurénsav nem specifikusan csak az NMDA receptoron hat, feltételezhető, hogy más receptoron hatva fejtheti ki hatását (AMPA, nikotinos acetilkolin receptor). Ugyanakkor jelen viszketési modellünk még nem tekinthető ideálisnak, mivel a viszketési magatartás igen nagy variabilitást mutat az egyes állatok között. Tervezzük a modell továbbfejlesztését, hogy még megbízhatóbban vizsgálhassuk a viszketés spinális mechanizmusát.

Egy hazai kongresszuson ismertettük eddigi eredményeinket, és jelenleg dolgozunk a kéziratban.

III. Perifériás mechanizmusok

A fájdalomkutatásban segítséget jelenthet újabb modellek bevezetése. Ennek megfelelően kifejlesztettünk egy szubkrónikus ízületi gyulladásos modellt, melyet több szempontból jellemeztünk. Folytattuk azokat a kutatásokat, melyek felderíthetik az endogén ligandok szerepét a fájdalomcsillapításban perifériás szinten. Megvizsgáltuk az ízületbe injektált endomorphin-1, a kinurénsav és az 2-AG hatását az ízületi gyulladás okozta mechanikus allodynára. Eredményeink azt igazolták, hogy ezen ligandok perifériás adása is hatékony antinocicepciót válthat ki, és a kombinációk legtöbb esetben kedvezőbb hatásúak a monoterápiánál.

5 hazai és 3 külföldi kongresszuson mutattuk be eredményeinket, ebből 2 absztrakt impakt faktoros folyóiratban is megjelent (össz IF: 4,284). 3 impakt faktoros nemzetközi folyóiratban megjelent eredeti közleményben ismertettük ezen témákban eredményeinket (Össz IF: 6,824), továbbá egy magyar folyóiratban angol nyelven megjelenő összefoglalónk jelenleg van elbírálás alatt.

IV. Szkizofrénia modell

Jól ismert, hogy a szkizofrénias betegek fájdalomérzékenysége csökkent, de annak mechanizmusáról keveset tudunk. A szkizofrénia állatmodellek nagy többsége akutan váltja ki egy-egy specifikus tünetét a betegségnek, és azt analizálja, illetve befolyásolja antipszichotikumokkal. Az ideális állatmodellnek hosszútávon kell a legtöbb tünetet produkálnia. Erre vonatkozóan is egyre több adat áll rendelkezésre, de még nincs ideális modellünk. Laboratóriumunkban kifejlesztettünk egy komplex, krónikus szkizofrénia modellt, melyben az állatok hőfájdalom szenzitivitása megváltozott. Kimutattuk, hogy ezen állatokban elsősorban a C-típusú érző neuronok ingerlékenysége változik meg. Jelenleg folynak azok a vizsgálatok, melyek kimutathatják, hogy milyen egyéb magatartásbeli, elektrofiziológiai eltérések azok, melyek szintén szimulálják a szkizofrénia tüneteit. Ez jelentős előrelépést jelenthet a kutatásainkban, mivel egy megfelelő állatmodell kifejlesztésével a szkizofrénia szerepet játszó patomechanizmusokat lehet vizsgálni, illetve új, potenciális antipszichotikumok hatását feltérképezni.

Ezen modell jellemzésére a tavalyi évben egy Minimitter készüléket szereztünk be. Eredetileg egy precíziós mérleg beszerzése szerepelt a tervben, de az Intézetünkben rendelkezésre áll egy megfelelő. Ugyanakkor a Minimitter készülék lehetővé teszi a hőszabályozás és a motoros aktivitás folyamatos regisztrálását telemetriás módszerrel.

4 hazai és 4 külföldi kongresszuson mutattuk be eredményeinket, ebből 3 absztrakt impakt faktoros folyóiratban is megjelent (össz IF: 4,797). 1 impakt faktoros nemzetközi folyóiratban megjelent közleményben ismertettük eredményeinket (IF: 2,806), továbbá két összefoglalót jelentettünk meg magyar folyóiratban (Idegtudomány Szemle).

V. Capsaicin deszenzitizáció

Legújabb vizsgálataink a fiatalkori (21 napos) capsaicin deszenzitizáció fájdalomküszöböt és egyéb funkciókat befolyásoló hatására irányulnak. Ez a modell alkalmas lehet arra, hogy hosszú távon követhessük ezen folyamatokat. Feltételezésünk szerint a neonatalis deszenzitizációnál ez a modell azért kedvezőbb, mert kisebb mortalitással kell számolnunk. A felnőtt korban végzett deszenzitizációnál pedig azért lehet jobb ez a módszer, mert a 21 napos, éppen elválasztott fiatal patkány neuronális fejlődése még nem zárult le. Eddigi eredményeink azt igazolták, hogy elsősorban a gyulladásos fájdalomérzékenység csökkent, illetve a morfin hatékonysága nőtt a deszenzitizált csoportban. A capsaicin érzékeny C-típusú fájdalomérző rostok zavarát az igazolja, hogy a capsaicin szemcsepp nem vált ki

szemtörlő mozgást és blepharospazmust, illetve a húgyhólyag kapacitása is jelentős mértékben megnőtt.

3 hazai és 1 külföldi kongresszuson mutattuk be eredményeinket, ebből 1 absztrakt impakt faktoros folyóiratban is megjelent (IF: 2,732). Ebben témában jelenleg is folynak kísérletek, és kb. 1 éven belül szeretnénk eredményeinket impakt faktoros nemzetközi folyóiratban közölni.

Összefoglalva az OTKA pályázat keretében fejleszthettük műszerparkunkat, és ennek köszönhetően több irányban fejlődhettek kutatásaink.

Eredményeinket 18 hazai és 12 külföldi kongresszuson ismertettük, melyből 8 impakt faktoros folyóiratban is megjelent (Össz IF: 14,742).

Az OTKA pályázatnak köszönhetően 8 impakt faktoros eredeti közlemény (Össz IF: 22,825), továbbá két magyar nyelvű összefoglaló jelent meg. Amint azt az egyes fejezetekben érintettem, még számos közlemény várható az eddig elért eredményekből, illetve több kísérlet még folyamatban van, melyek eredményeit szintén nívós nemzetközi folyóiratokban szeretnénk publikálni.